BEITRÄGE

ZUR

KENNTNISS DER NUCLEINBASEN.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

VON DER

PHILOSOPHISCHEN FACULTÄT

DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT ZU BERLIN

GENEHMIGT UND

NEBST DEN BEIGEFÜGTEN THESEN ÖFFENTLICH ZU VERTHEIDIGEN

AM 21. DECEMBER 1892

VON

CARL WULFF
AUS HOERDE.

OPPONENTEN:

I. G. MIE, CAND. PHIL.
II. L. VANVOLXEN, CAND. PHIL.
III. F. RÖWER, DR. PHIL.

STRASSBURG
VERLAG VON KARL J. TRÜBNER
1892.

Dem Andenken

seiner theuren Eltern

gewidmet

Vom Verfasser.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535713_0075

Die neueren eingehenden Untersuchungen über das Adenin und das Hypoxanthin haben zur Folge gehabt, dass man von diesen beiden Basen zur Zeit in manchen Punkten eine bessere Kenntniss besitzt, als von den weit länger bekannten Schwesterbasen, dem Guanin und dem Xanthin. Einerseits sind eine Menge chemischer Verbindungen vom Adenin und Hypoxanthin dargestellt worden, wie solche von den beiden Schwesterbasen bisher nicht bekannt waren; andererseits haben die Untersuchungen von Bruhns[1]) sich auch speciell mit der Ausarbeitung einer Methode zur quantitativen Bestimmung der beiden Basen befasst, und ist es ihm gelungen, einen Weg ausfindig zu machen, der eine scharfe quantitative Trennung beider Basen ermöglicht. Für das Guanin und das Xanthin existirt eine derartige Bestimmungsmethode nicht. Die Auffindung einer solchen muss natürlich für die physiologische Chemie von grossem Werthe sein, zumal wenn sie eine derartige ist, dass sie nicht allein das Guanin und Xanthin berücksichtigt, sondern auch das Adenin und Hypoxanthin, also eine quantitative Trennung und Bestimmung der vier Nucleinbasen möglich macht.

Meine im Folgenden beschriebenen Untersuchungen liefern einerseits einen Beitrag zur Kenntniss des Guanins, andererseits einiges Material für die quantitative Bestimmung und Trennung der Nucleinbasen.

---

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 14, S. 538.

Darstellung des Guanins.

Als Ausgangsmaterial für die Darstellung des Guanins diente Peru-Guano[1]).

Das Verfahren, nach dem Strecker[2]) das Guanin aus dem Guano gewann, war im Wesentlichen folgendes: Nachdem der Guano wiederholt mit Kalkmilch ausgekocht ist, wird dem Rückstand durch Auskochen mit Soda das Guanin und die Harnsäure entzogen. Die filtrirte alkalische Lösung wird mit Natriumacetat und Salzsäure versetzt, wodurch Harnsäure und Guanin ausfallen. Das Gemenge beider wird nun mit ziemlich concentrirter, heisser Salzsäure behandelt; das Guanin geht in Lösung, während Harnsäure bis auf geringe Mengen ungelöst bleibt. Aus dem auskrystallisirten salzsauren Guanin wird die freie Base durch Ammoniak abgeschieden. Das so erhaltene Guanin wird nun zur Zerstörung der noch vorhandenen geringen Spuren von Harnsäure in starker heisser Salpetersäure gelöst, und schliesslich durch Behandeln des auskrystallisirten Nitrates mit Ammoniak reines Guanin erhalten.

Neubauer und Kerner[3]) verfuhren, um ein rohes salzsaures Guanin zu reinigen, in der Weise, dass sie die Lösung desselben mit alkoholischer Quecksilberchloridlösung fällten und das gebildete Guanin-Quecksilbersalz wieder durch Schwefelwasserstoff zerlegten.

Das Verfahren, welches ich bei der Darstellung des Guanins in Anwendung brachte, war ein wesentlich anderes: Peru-Guano wird mit verdünnter Schwefelsäure, welche im Liter ca. 50 Volumtheile H_2SO_4 enthält, 4—6 Stunden gekocht und nach dem Erkalten alsbald filtrirt. Die Filtration verläuft leicht und schnell. Die gelblich gefärbte Flüssigkeit wird nun mit Natronlauge alkalisch gemacht, von dem entstehenden

---

[1]) Seitens der Anglo-Continentale, vormals Ohlendorff'schen Guanowerke, zu Emmerich wurde mir eine Quantität Peru-Guanos bereitwilligst zur Verfügung gestellt, wofür auch an dieser Stelle der genannten Firma mein Dank ausgesprochen werde.

[2]) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 118, S. 152.

[3]) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 101, S. 318.

voluminösen Niederschlage abfiltrirt, und das so erhaltene alkalische Filtrat, das u. A. Guanin neben geringen Mengen Harnsäure enthält, mit soviel ammoniakalischer Silberlösung versetzt, dass das Guanin und die Harnsäure als Silberverbindungen gefällt werden. Nach Verlauf von 12 Stunden hat sich der voluminöse Niederschlag zu Boden gesetzt. Man zieht den grösseren Theil der überstehenden klaren Flüssigkeit mittelst eines Hebers ab und bringt den Rest auf ein Faltenfilter von möglichst starkem Papier. Der auf dem Filter gesammelte Niederschlag wird, nachdem er erst mit kaltem, dann mit heissem Wasser ausgewaschen ist, in noch feuchtem Zustande vom Filter heruntergenommen und allmälig unter Umrühren in heisse verdünnte Salzsäure eingetragen, wodurch er alsbald zersetzt wird. Die vom abgeschiedenen Chlorsilber[1]) abfiltrirte salzsaure Lösung wird, nachdem sie durch Digeriren mit Thierkohle auf dem Wasserbade möglichst entfärbt ist, mit Ammoniak übersättigt, wodurch das Guanin zur Ausscheidung gelangt. Das so erhaltene Guanin wird zur Zerstörung von noch beigemengten Spuren Harnsäure unter gleichzeitigem Zusatz einer kleinen Menge Harnstoff in siedend heisser Salpetersäure von einem Gehalte von ca. 20 % HNO_3 gelöst und zur Krystallisation bei Seite gestellt. Der Zusatz von Carbamid hat den Zweck, die geringen Mengen der sich bildenden salpetrigen Säure in ihrer Wirkung auf das Guanin unschädlich zu machen. Das auskrystallisirte salpetersaure Guanin wird in verdünnter Natronlauge gelöst, und hieraus durch Chlorammonium das Guanin abgeschieden. Durch letzteren Process werden etwa vorhandene geringe Spuren von Xanthin, das aus verdünnter alkalischer Lösung durch Ammoniak und Ammoniaksalze nicht gefällt wird, getrennt.

Das auf diese Weise gewonnene Guanin bildet ein amorphes Pulver von blendend weisser Farbe.

---

[1]) Das Chlorsilber wird, um es für weitere Fällungen brauchbar zu machen, zweckmässig durch Zink und Salzsäure reducirt. Soweit es sich in Ammoniak löst, kann auch die ammoniakalische Chlorsilberlösung direct zur Fällung benutzt werden.

Die Analyse ergab folgende Zahlen:

0,2347 gr., bei 105° getrocknet, gaben 0,3411 gr. CO_2 und 0,072 gr. H_2O.
0,0998 gr., bei 105° getrocknet, gaben 40 cbcm. N. bei 760 B und 17,3 T.

	Berechnet für $C_5H_5N_5O$:	Gefunden:
C	39,73	39,64 %
H	3,31	3,41 %
N	46,36	46,43 %

Da, wie wohl keinem Zweifel unterliegt, das Guanin im Guano z. Th. an Kalk gebunden, z. Th. in nucleinartigen Körpern sich vorfindet, die Spaltung der letzteren aber und somit das Freiwerden des Guanins beim Kochen mit verdünnten Säuren nur langsam erfolgt, so genügt in der Regel ein einmaliges Auskochen des Guanos nicht, um alles darin enthaltene Guanin in Lösung zu bringen. Man wiederholt daher das Auskochen, solange die Ausbeute an Guanin noch lohnend ist.

Spaltung des Guanins durch Salzsäure.

Durch die Untersuchungen von E. Schmidt und Pressler[1]) wurde festgestellt, dass das Xanthin und seine beiden Methylderivate, das Theobromin und das Coffein, bei hoher Temperatur und unter Druck durch conc. Salzsäure im Sinne nachfolgender Gleichungen gespalten werden:

$$C_5H_4N_4O_2 + 6\,H_2O = 3\,NH_3 + C_2H_5NO_2 + 2\,CO_2 + CH_2O_2.$$
Xanthin.

$$C_7H_8N_4O_2 + 6\,H_2O = 2\,NH_3 + NH_2CH_3 + CH_3C_2H_4NO_2 + 2\,CO_2 + CH_2O_2.$$
Theobromin.

$$C_8H_{10}N_4O_2 + 6\,H_2O = NH_3 + 2\,NH_2CH_3 + CH_3C_2H_4NO_2 + 2\,CO_2 + CH_2O_2.$$
Coffein.

Die Spaltung verläuft also bei allen drei Basen analog. Als Zersetzungsproducte beim Xanthin treten auf: Kohlensäure, Ameisensäure, Ammoniak und Glykokoll. Bei der Spaltung des Theobromin-Moleküls erscheint von den beiden Methylgruppen die eine an Glykokoll, die andere an Ammoniak

[1]) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 217, S. 270.

gelagert, sodass hier an Stelle von Glykokoll und einem Molekül Ammoniak Sarkosin und Methylamin auftreten. Beim Coffein sind die Spaltungsproducte dieselben; nur werden hier infolge der noch vorhandenen dritten Methylgruppe zwei Moleküle Methylamin abgespalten.

Es schien von Wichtigkeit und Interesse, auch das Guanin in gleicher Weise der Einwirkung von conc. Salzsäure auszusetzen. Auf Grund der durch salpetrige Säure leicht zu bewerkstelligenden Ueberführung des Guanins in Xanthin hatte man, zugleich im Hinblick darauf, dass beide Basen sich durch ihre allgemeinen Eigenschaften als nahe Verwandte erwiesen hatten, dem Guanin eine Constitution zugeschrieben, die sich von der des Xanthins nur dadurch unterscheidet, dass eine O-Gruppe durch NH ersetzt ist. Die Annahme einer analogen Gruppirung der Atome in den Molekülen beider Basen setzt ein gleiches Verhalten beider Körper voraus. Es musste daher Wunder nehmen, dass sich in einigen Beziehungen Unterschiede herausstellten.

Strecker[1]) fand bei der Oxydation des Guanins durch chlorsaures Kali und Salzsäure als wesentliche Zersetzungsproducte Guanidin, Parabansäure und Kohlensäure. E. Fischer[2]) unterwarf später das Xanthin der Oxydation durch Chlor und erhielt als Spaltungsproducte Alloxan und Harnstoff, während auch ihm das Guanin statt des Alloxans Parabansäure und Kohlensäure lieferte[3]). Ein Hinweis darauf, dass das Alloxan als intermediäres Oxydationsproduct auftritt, wenn Harnsäure mit Salpetersäure eingedampft wird, genügt, um den hier auftretenden Unterschied als einen nicht wesentlichen zu kennzeichnen; gleichwohl ist er bemerkenswerth.

Ein zweiter zu erwähnender Unterschied ist der folgende: Strecker[4]) erhielt durch Einwirkung von Jodmethyl auf Xanthinsilber ein Dimethylxanthin, ein Isomeres des Theo-

---

[1]) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd 118, S. 155.
[2]) Dieselben Annal., Bd. 215, S. 257.
[3]) Ber. d. deutsch. chem. Ges., 1882, S. 455.
[4]) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 118, S. 172.

bromins. E. Fischer[1]) konnte ohne grosse Schwierigkeit das Theobromin aus dem Xanthin erhalten, indem er Jodmethyl auf eine Bleiverbindung des Xanthins einwirken liess. Es gelang also leicht, an das Xanthinmolekül Alkylgruppen anzufügen.

Im Gegensatz hierzu verlief ein Versuch von E. Fischer und Reese[2]), in gleicher Weise Alkylderivate vom Guanin darzustellen, völlig resultatlos. Die Reaction verlief hier in so komplexem Sinne, dass die entstandenen Producte ununtersucht bleiben mussten.

Es resultirt hieraus, dass man a priori nicht berechtigt ist, vom Xanthin auf das Guanin zu schliessen. Der Versuch, das Guanin durch Salzsäure zu zerlegen, musste darum von Interesse sein. Konnte nachgewiesen werden, dass das Guanin in analoger Weise wie das Xanthin durch Salzsäure gespalten werde, so war ein weiterer Beweis für die Constitutionsformel des Guanins erbracht.

Die Spaltung des Guanins durch Salzsäure bewirkte ich in der Weise, dass ich Guanin mit der zwanzigfachen Menge Salzsäure (spez. Gew. 1,19) in ein Rohr einschloss und 12—15 Stunden auf 180—200° erhitzte. Nach Verlauf dieser Zeit war die Spaltung beendet; das Reactionsgemisch im Rohr bildete eine fast farblose Flüssigkeit, aus der beim Erkalten Krystalle in grosser Menge sich ausschieden. Z. Th. konnten dieselben als Chlorammonium-Krystalle erkannt werden. Eine Probe derselben, in Wasser gelöst und mit Platinchlorid versetzt, lieferte die bekannten oktaedrischen Krystalle von Ammoniumplatinchlorid. Die weitere Untersuchung der Zersetzungsproducte war zunächst auf die gebildeten gasförmigen Producte gerichtet, die beim Oeffnen des Rohres demselben unter starkem Druck entströmt und z. Th. über Wasser, z. Th. über Quecksilber aufgefangen waren.

Das Gasgemisch brannte mit bläulicher Flamme. Mittelst Barytwasser wurde in demselben die Gegenwart von Kohlen-

[1]) Annal. d. Chem. u. Pharm, Bd. 215, S. 311.
[2]) Dieselben Annal., Bd. 221, S. 341.

säure nachgewiesen. Ein anderer Theil des Gasgemisches wurde zur Prüfung auf Kohlenoxyd, dem Zersetzungsproducte etwa gebildeter Ameisensäure, verwendet. Der Nachweis des Kohlenoxyds geschah auf doppelte Weise: Ein Theil des Gasgemisches wurde, nachdem er einige Zeit zur Absorption der Salzsäure über Wasser aufbewahrt war, mit Palladiumchlorür geschüttelt: es erfolgte eine Abscheidung von metallischem Palladium. Ein anderer Theil wurde mit verdünntem Blut geschüttelt, und die Blutlösung, in geeigneter Verdünnung mit einigen Tropfen Schwefelammonium durchschüttelt, im Spectralapparat betrachtet. Es erschien nicht das Spectrum des reduzirten Hämoglobins, vielmehr jene für das Kohlenoxydhämoglobin charakteristischen Streifen. Das Auftreten von Kohlenoxyd ist als eine Folge einer sekundär verlaufenden Reaction zu betrachten, indem die abgespaltene Ameisensäure durch die vereinte Einwirkung von starker Salzsäure, hoher Temperatur und starkem Druck in Kohlenoxyd und Wasser zerfällt.

Gleichwohl konnte eine nicht unbeträchtliche Menge von Ameisensäure unter den Reactionsproducten nachgewiesen werden, und zwar in folgender Weise: Die Zersetzungsproducte von etwa 3 gr. Guanin wurden in ca. 300 gr. Wasser gelöst, und hiervon 100 gr. abdestillirt. Das Destillat, das reichliche Mengen Salzsäure enthielt, wurde mit NaOH genau neutralisirt und auf dem Wasserbade eingeengt. In dieser koncentrirten Lösung wurde die Gegenwart von Ameisensäure auf folgende Weise dargethan: Ein Theil, mit Aethylalkohol und einigen Tropfen Schwefelsäure gelinde erwärmt, gab den an Arrak erinnernden Geruch von ameisensaurem Aethylester. Zu einem anderen Theil wurde ein Tropfen Eisenchloridlösung gegeben: es trat braunrothe Färbung ein; beim Erwärmen bildete sich ein rostbrauner flockiger Niederschlag. Ein dritter Theil wurde mit Quecksilberchloridlösung auf dem Wasserbade allmälig erwärmt: es fiel Quecksilberchlorür nieder.

Es erübrigte, nachdem, wie oben erwähnt, die Krystalle, welche sich aus dem Reactionsgemisch abgeschieden hatten,

als Salmiakkrystalle charakterisirt waren, die Bildung von Glykokoll nachzuweisen. Das durch Zersetzung von etwa 3 gr. Guanin erhaltene, in Wasser gelöste Reactionsproduct, von dem ein Theil zum Nachweis der Ameisensäure abdestillirt war, gab die für Glykokoll charakteristische Blaufärbung durch Kupferchlorid.

Um das Glykokoll zu isoliren, verfuhr ich, wie folgt: Die erwähnte Lösung der Reactionsproducte wurde, nachdem durch Zugabe von 6 gr. Schwefelsäure der grösste Theil der darin gelösten salzsauren Salze in Sulfate übergeführt war, auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit heissem Wasser aufgenommen, die heisse Lösung, um sie chlorfrei zu machen, mit schwefelsaurem Silber gefällt, vom Chlorsilber abfiltrirt, und das überschüssige Silber durch Schwefelwasserstoff entfernt. Die filtrirte Flüssigkeit wurde nun zum Sieden erhitzt und, nachdem der Geruch nach Schwefelwasserstoff verschwunden war, mit Baryumcarbonat gefällt und vom Baryumsulfat und überschüssigen Carbonat abfiltrirt. Beim Eindampfen der auf diese Weise erhaltenen Flüssigkeit restirte ein allmälig krystallinisch erstarrender Sirup. Derselbe wurde mit einer kleinen Menge Wasser aufgenommen, mit frisch gefälltem, rein ausgewaschenem Kupferoxydhydrat erwärmt und filtrirt. Aus dem Filtrate schieden sich nach Zusatz von Alkohol blaue nadelförmige Krystalle ab, welche, nochmals umkrystallisirt, analysirt wurden. Die Analyse ergab, dass die Verbindung aus reinem Glykokollkupfer bestand.

Das Kupfersalz verlor beim Trocknen bei 100° nur ganz langsam, schneller bei 130° das Krystallwasser. Mit Verlust desselben wurde die Farbe tiefdunkelblau.

0,3938 gr., über H_2SO_4 getrocknet, gaben 0,300 gr. CO_2 und 0,1615 gr. H_2O. 0,2626 gr. verloren, bis 130° getrocknet, 0,0212 gr. an Gewicht und gaben 0,0915 gr. Cu_2S.

	Berechnet für $Cu(C_2H_4NO_2)_2 + H_2O$:	Gefunden:
C	20,92	20,78
H	4,36	4.56
H_2O	7,84	8,07
Cu	27,67	27,83 %

Hatte so die bisherige Untersuchung ergeben, dass das Guanin bei der Spaltung durch Salzsäure dieselben Zersetzungsproducte liefert, wie das Xanthin, so hatte die weitere Untersuchung sich darauf zu richten, ob es möglich sei, die Formel, nach der die Spaltung erfolgt, zu ermitteln. Ich habe dieserhalb erstens bestimmt, wieviel Moleküle NH_3 aus dem Guanin-Molekül abgespalten werden, zweitens aus der Gesammtmenge der bei 100° nicht flüchtigen Zersetzungsproducte weitere Schlüsse gezogen.

Erstere Bestimmung geschah in folgender Weise: 0,4965 gr. Guanin wurden durch 10 gr. conc. Salzsäure, wie oben angegeben, gespalten. Der Röhreninhalt wurde mit Wasser genau auf 250 cbcm. verdünnt. Hiervon wurden zweimal je 50 cbcm. mit NaOH destillirt, und im Destillate mit $^1/_{10}$ N-Oxalsäure die Menge des vorhandenen Ammoniaks bestimmt. Destillat I verbrauchte 26,35 cbcm. und Destillat II 26,45 cbcm. $^1/_{10}$ N-Oxalsäure zur Neutralisation. Hieraus ergibt sich, dass aus 0,0993 gr. Guanin $\left[\frac{0{,}4965}{5} = 0{,}0993\right]$ (I) 3,69 und (II) 3,703 mgr. Stickstoff in Form von Ammoniak abgespalten waren. Bei der Annahme, dass aus dem Molekül Guanin 4 Atome Stickstoff in Form von Ammoniak abgespalten werden, berechnet sich der Procentsatz für diese 4 Atome Stickstoff auf 37,09. Gefunden wurden (I) 37,16 und (II) 37,29%; sodass durch diese Versuche dargethan ist, dass aus einem Molekül Guanin, das 5 Atome N enthält, 4 N-Atome in Form von Ammoniak abgespalten werden.

Die Gleichung, nach der die Spaltung des Xanthins vor sich geht:

$$C_5H_4N_4O_2 + 6H_2O = 3NH_3 + C_2H_5NO_2 + 2CO_2 + CH_2O_2$$

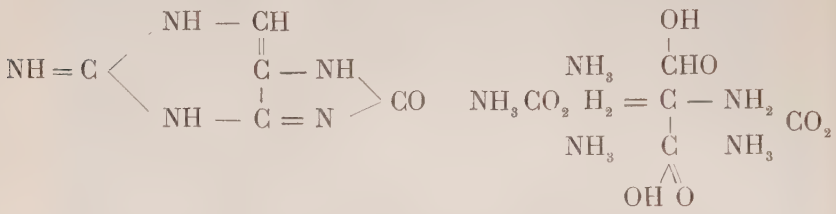
modifizirt sich also für das Guanin folgendermassen:

$$C_5H_5N_5O + 7H_2O = 4NH_3 + C_2H_5NO_2 + 2CO_2 + CH_2O_2$$

Die schliesslich ausgeführte quantitative Bestimmung der gesammten bei 100° nicht flüchtigen Zersetzungsproducte bestätigte diese Formel. Die restirenden 150 cbcm. obiger Lösung, welche die Zersetzungsproducte von $\frac{3}{5} \times 0{,}4965$

= 0,2979 gr. Guanin enthielten, wurden in einer Platinschale zur Trockne verdunstet, kurze Zeit bei 100° getrocknet und zur Wägung gebracht. Das Gewicht betrug 0,651 gr. Nach obiger Gleichung aber entstehen aus einem Molekül Guanin 4 Moleküle Chlorammonium und ein Molekül salzsaures Glykokoll, sodass für die Zersetzungsproducte von 0,2979 gr. Guanin der theoretisch berechnete Rückstand 0,6441 gr. beträgt.

Die Art und Weise des Zerfalls des Guanin-Moleküls unter dem Einfluss von Salzsäure wird in folgender Weise veranschaulicht.



Verbindungen des Guanins mit Säuren.

Von Verbindungen des Guanins mit Säuren waren bisher bekannt und näher untersucht: das Hydrochlorat, Sulfat, Nitrat, Oxalat und Tartrat.

Capranika machte im Jahre 1880 in einer «Mittheilung über einige neue Guaninreactionen»[1]) auf einige weitere charakteristische Guaninsalze aufmerksam. Er bespricht kurz die krystallinischen Ausscheidungen, welche entstehen, wenn eine Lösung von salzsaurem Guanin mit Kaliumbichromat, Pikrinsäure und Ferricyankalium versetzt wird. Diese drei Verbindungen habe ich zunächst näher untersucht.

Guaninbichromat $(C_5H_5N_5O)_2H_2Cr_2O_7$.

Löst man Guanin in salzsäurehaltigem Wasser und setzt eine Lösung von Kaliumbichromat zu, so entsteht je nach der Concentration der Guaninlösung nach kürzerer oder

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 4, S. 233.

längerer Zeit eine Ausscheidung von wohlausgebildeten, glänzenden, orangefarbigen Krystallen. Dieselben erscheinen, unter dem Mikroskop betrachtet, als längliche, vierseitige Prismen, welche meist durch Endflächen abgestumpft sind. Die Krystalle können nicht gut mit Wasser in Berührung gebracht werden; schon ein kurzes Auswaschen genügt, um einen Theil der Chromsäure zu entziehen. Schneller und vollständiger erfolgt die Dissociation bei Einwirkung von siedendem Wasser. Etwas über 100° erhitzt, spaltet die Verbindung Wasser ab; auf Platinblech erhitzt, zerstäubt sie unter Funkensprühen.

Zum Zwecke der Analyse wurde die Verbindung zunächst mit einigen Tropfen Schwefelsäure im Platintiegel auf dem Wasserbade erhitzt, bis die Gasentwickelung nachgelassen, dann die grüne sirupöse Flüssigkeit vorsichtig auf freiem Feuer zur Trockne verdampft, und der Rückstand, schliesslich kurze Zeit im Gebläse, geglüht. Das zurückgebliebene, sehr voluminöse Chromoxyd war, wie durch Auskochen mit Wasser constatirt wurde, frei von Schwefelsäure, womit gleichzeitig die Abwesenheit von Kalium nachgewiesen war. Es musste also eine Verbindung des Guanins mit Chromsäure bezw. Bichromsäure vorliegen. Dem entspricht auch die weiterhin constatirte Thatsache, dass sich das Guanin, wenn auch schwer, in heisser wässeriger Chromsäure löst, und sich beim Erkalten der Lösung die gleichen Krystalle abscheiden.

Analyse:

1. Verbindung, erhalten durch Fällung einer salzsauren Guaninlösung mit $K_2Cr_2O_7$.

0,6518 gr., lufttrocken, verloren bei 115° 0,0224 gr.
0,6281 gr., » » » » 0,0209 gr.

0,2789 gr., bei 115° getrocknet, gaben mit H_2SO_4 verascht, 0,0849 gr. Cr_2O_3.
0,3857 gr., bei 115° getrocknet, gaben mit H_2SO_4 verascht, 0,1163 gr. Cr_2O_3.

0,3422 gr., bei 115° getrocknet, gaben 0,298 CO_2 und 0,0662 H_2O.
0,1361 gr., » » » » 33,1 cbcm. N. bei 753 B und 18 T.

II. Verbindung, erhalten durch Lösen von Guanin in wässeriger Chromsäurelösung.

0,3585 gr., lufttrocken, verloren bei 115° 0,0125 gr.
0,3435 gr., bei 115° getrocknet, gaben 0,1033 Cr_2O_3.

	Berechnet für $C_5H_5N_5O, CrO_3$:	Gefunden:
Cr	20,87	I. 20,88 / 20,69
		II. 20,64
C	23,86	23,75
N	27,83	27,81
H	1,99	2,15%

Die Menge des bei 115° aus der Verbindung ausgetretenen Wassers entspricht, auf obige Formel berechnet, einem halben Molekül. Aus der Formel $C_5H_5N_5O, CrO_3 + {}^1/_2H_2O$ berechnet sich das halbe Molekül Wasser auf 3,56%, während (I) 3,44 und 3,33, (II) 3,49% gefunden wurden.

Auf Grund dieser Analysen muss man entweder annehmen, dass das Guanin sich mit dem Anhydrid der Chromsäure verbindet, sodass die Formel des lufttrockenen Salzes $C_5H_5N_5O, CrO_3 + {}^1/_2H_2O$ wäre, oder aber man muss die Verbindung für ein Guaninbichromat halten von der Formel $(C_5H_5N_5O)_2\ H_2Cr_2O_7$, welches über 100° unter Abspaltung von einem Molekül H_2O in ein Chromat von der Formel $C_5H_5N_5O, CrO_3$ übergeht. Für die Annahme eines Bichromats spricht die analoge Verbindung des Adenins, der die Formel $(C_5H_5N_5)_2H_2Cr_2O_7$ zukommt[1]). Das Adeninbichromat ist allerdings auch über 100° beständig, wie überhaupt das Adenin als stärkere Base viel beständigere Verbindungen liefert als das Guanin. Bei dem schwach basischen Charakter des Guanins und der Unbeständigkeit der Bichromsäure, die im freien Zustande kaum, oder doch nur bei niedriger Temperatur existenzfähig ist, kann es nicht Wunder nehmen, dass ein Guaninbichromat bei höherer Temperatur leicht zerfällt; gibt doch selbst das salzsaure Guanin bei höherer Temperatur seine Säure vollständig ab.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 16, S. 166.

Guaninpikrat $C_5H_5N_5O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$.

Versetzt man die Lösung eines Guaninsalzes mit Natriumpikrat- oder Pikrinsäurelösung, so scheidet sich alsbald, in ganz verdünnten Lösungen nach einiger Zeit Guaninpikrat aus. Diese Verbindung des Guanins ist charakteristisch durch ihre Krystallform und ihre äusserst schwere Löslichkeit in kaltem Wasser und verdünnten Säuren. Die goldgelben Krystalle — das ebenfalls sehr schwer lösliche Adeninpikrat ist bedeutend heller von Farbe — stellen, unter dem Mikroskop betrachtet, pinselförmige oder farrenkrautartige Gebilde dar; seltener zeigen sich sparrige Drusen grosser Nadeln. Lufttrocken besitzt das Pikrat goldgelbe Farbe, filzartige Beschaffenheit und seidenartigen Glanz. Beim Erhitzen wird es dunkler, fast orangeroth, um beim Abkühlen die ursprüngliche Farbe wieder anzunehmen. Bei 110° verliert es sein Krystallwasser, gleichzeitig verschwindet der Glanz, und die goldgelbe Farbe geht in eine hellgelbe über. Erst bei 190° beginnt das Pikrat sich allmälig zu zersetzen, bei langsam gesteigerter Temperatur verkohlt es allmälig, während es bei schnell gesteigerter Temperatur mit Flamme verbrennt. In beiden Fällen restirt eine reichliche Menge voluminöser Kohle.

Das Guaninpikrat löst sich in fixen und kohlensauren Alkalien, leicht beim Erwärmen. Es folgt hieraus, dass eine Lösung von Guaninnatrium nur durch überschüssige Pikrinsäure gefällt wird. In verdünnten Säuren löst es sich in der Wärme ziemlich leicht, sehr schwer jedoch in der Kälte. Wasser, Alkohol und Ammoniak wirken, zumal beim Erwärmen, dissociirend ein. Aus diesem Grund konnte die Löslichkeit des Pikrates nur indirect bestimmt werden. Ich fand, dass Guanin noch in Lösungen von 1 : 30 000 durch Pikrinsäure gefällt wird; doch erfolgt in solcher Verdünnung die Abscheidung des Pikrates erst nach längerer Zeit.

Das Guaninpikrat krystallisirt mit 1 Molekül Krystallwasser. Lufttrocken hat es die Formel $C_5H_5N_5O, C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$. Hiernach berechnet sich das Krystallwasser auf 4,52 %, während 4,62, 4,66 und 4,54 % gefunden wurden.

Analyse:

0,1689 gr., bei 120° getrocknet, gaben 0,2141 gr. CO_2 u. 0,0357 gr. H_2O.
0,1421 gr., bei 120° getrocknet, gaben 35,8 cbcm. N bei 16,9 T u. 761,5 B.

Berechnet für $C_5H_5N_5OC_6H_2(NO_2)_3OH$:		Gefunden:
C	34,74	34,52
H	2,11	2,35
N	29,47	29,30%

Ferricyanwasserstoffsaures Guanin.
$(C_5H_5N_5O)_4H_3Fe(CN)_6 + 8H_2O$.

Wird eine salzsaure Guaninlösung mit einer Lösung von rothem Blutlaugensalz versetzt, so scheiden sich nach einiger Zeit kleine, glänzende, braungelbe Krystalle ab Dieselben erscheinen, unter dem Mikroskop betrachtet, als vier- oder sechsseitige Prismen mit je zwei Endflächen, von denen die eine meist bedeutend grösser ist als die andere. Bei 100° getrocknet, verliert die Verbindung sehr langsam an Gewicht; erst bei mehrstündigem Trocknen auf 120—130° verliert sie das Krystallwasser ganz, während gleichzeitig die braungelbe Farbe einer dunkelgrünen Platz macht. Das Salz hinterliess, mit Schwefelsäure verascht, reines Eisenoxyd, musste also für eine Verbindung des Guanins mit Ferricyanwasserstoffsäure angesprochen werden.

Die Analyse ergab, dass das Salz eine eigenartige Zusammensetzung hat, insofern 1 Molekül $H_3Fe(CN)_6$ sich mit 4 Molekülen Guanin verbindet. Dem lufttrockenen Salz kommt die Formel $(C_5H_5N_5O)_4H_3Fe(CN)_6 + 8H_2O$ zu.

Analyse:

0,256 gr., lufttrocken, gaben, mit H_2SO_4 verascht, 0,0212 Fe_2O_3.
0,1585 gr., » » » » » 0,0131 Fe_2O_3.
0,2253 gr., » » » » » 0,0189 Fe_2O_3.

0,2413 gr., lufttrocken, gaben 0,284 gr. CO_2 u. 0,0861 gr. H_2O.

0,1156 gr., lufttrocken, gaben 39,2 cbcm N bei 21,2 T u. 751 B.
0,1156 gr., » » 38,6 cbcm. N bei 19,5 T u. 752,5 B.

0,3045 gr., lufttrocken, verloren beim Trocknen bis 130° 0,0455 gr.
0,242 gr., » » » » » » 0,037 gr.

Berechnet für: $(C_5H_5N_5O)_4H_3Fe(CN)_6 + 8H_2O$:		Gefunden:
Fe	5,82	5,79 5,78 5,87
C	32,39	32,09
N	37,79	38,08 37,89
H	4,05	3,97
H_2O	14,95	14,94 15,29

Die eigenartige Zusammensetzung des Salzes muss allerdings befremden. Es muss jedoch in Betracht gezogen werden, dass einerseits die als dreiwerthig geltende Ferricyanwasserstoffsäure nicht immer in ihren Verbindungen dreiwerthig auftritt. So kommt dem ferricyanwasserstoffsauren Chinin die Formel $C_{20}H_{24}N_2O_2$, $H_3Fe(CN)_6$ zu. Auf der anderen Seite muss berücksichtigt werden, dass das Guanin, das ja allerdings zumeist als einsäurige Base auftritt, auch mit anderen Säuren Salze bildet, die eine anormale Zusammensetzung zeigen. So sind 4 verschiedene Nitrate des Guanins dargestellt worden, verschieden insofern, als das Verhältniss der Base zur Säure in allen ein anderes ist. Auch das Oxalat und Tartrat sind eigenartig zusammengesetzt, indem in beiden 2 Moleküle der entsprechenden Säure mit 3 Molekülen Guanin verbunden sind.

Auch mit Ferrocyanwasserstoffsäure verbindet sich das Guanin. Das Salz stellt fast farblose Nadeln dar, ist aber wenig charakteristisch, weshalb ich von einer Analyse Abstand genommen habe.

Das Adenin gibt ebenfalls mit beiden Säuren Salze, deren Zusammensetzung aber bisher noch nicht ermittelt ist.

Nitroferricyanwasserstoffsaures Guanin.

$(C_5H_5N_5O)_2H_2(CN)_5NOFe + 1\frac{1}{2}H_2O$.

Versetzt man eine Lösung von salzsaurem Guanin mit einer Lösung von Nitroprussidnatrium, so scheiden sich nach einiger Zeit am Boden der Flüssigkeit ziemlich grosse, glänzende, hellziegelrothe Krystalle ab. Dieselben erscheinen

bei entsprechender Vergrösserung als vierseitige Säulen mit zugespitzten Enden. Durch die Analyse wurde für das Salz die Formel $(C_5H_5N_5O)_2\ H_2(CN)_5NOFe + 1^1/_2H_2O$ festgestellt. Es ist bemerkenswerth, dass dieses Salz im Gegensatz zu dem ferricyanwasserstoffsauren Guanin eine normale Zusammensetzung hat.

Analyse:

0,3567 gr., lufttrocken, verloren, bis 120° getrocknet, 0,0175 gr.
0,1015 gr., » » » » » 0,0052 gr.
0,16 gr., lufttrocken, gaben, mit H_2SO_4 verascht, 0,024 gr. Fe_2O_3.
0,1015 gr., » » » » » 0,015 gr. Fe_2O_3.
0,425, lufttrocken, gaben 0,588 Guaninpikrat[1]).

Berechnet für: $(C_5H_5N_5O)_2H_2(CN)_5NOFe + 1^1/_2H_2O$:		Gefunden:
Fe	10,24	10,5 10,34
$C_5H_5N_5O$	55,21	54,96
H_2O	4,94	4,91 5,12

Guanin-Metaphosphat $C_5H_5N_5O$, $HPO_3 + x\,H_2O$.

Eine sehr charakteristische Verbindung des Guanins ist das Guanin-Metaphosphat, charakteristisch wegen ihrer äusserst geringen Löslichkeit in Wasser und verdünnten Säuren. Die Metaphosphorsäure muss daher als ein vorzügliches Reagens auf Guanin betrachtet werden.

Pohl[2]) constatirte bereits, dass salzsaures Guanin mit Natriummetaphosphat einen in überschüssiger Säure unlöslichen Niederschlag hervorruft, der sich leicht in Alkalien löst.

L. Liebermann bespricht[3]) ebenfalls diese Metaphosphorsäure-Verbindung des Guanins. Er sagt, dass Guanin, in verdünnter Natronlauge gelöst, mit Metaphosphorsäure erst einen weissen flockigen, dann bei Zusatz von mehr Metaphosphorsäure einen krystallinischen Niederschlag gebe. Letzteren erklärt er für ein Neutralisationspräcipitat, das aus

[1]) Ueber die quantitative Bestimmung des Guanins als Pikrat s. S. 28.
[2]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 13, S. 293.
[3]) Centralbl. f. med. Wissensch., 1889, S. 225.

reinem Guanin bestehe, während der anfangs entstehende flockige Niederschlag eine Verbindung sei von Guanin, Natrium und Metaphosphorsäure, welche Verbindung durch einen Ueberschuss von Metaphosphorsäure zersetzt werde.

Fällt man nach Pohl salzsaure Guaninlösung mit Natriummetaphosphat oder nach Liebermann Guaninnatriumlösung mit Metaphosphorsäure, so entsteht auf der Stelle und selbst in äusserst verdünnten Lösungen eine feinflockige Ausscheidung, die der Flüssigkeit ein milchiges Aussehen gibt. Erst nach Verlauf längerer Zeit hat sich ein weisser Niederschlag am Boden abgesetzt, während die überstehende Flüssigkeit völlig klar erscheint. Infolge seiner Feinheit filtrirt der Niederschlag anfangs trübe, verstopft aber bald die Poren des Filters so, dass das Auswaschen sehr erschwert ist. Unter dem Mikroskop betrachtet, bildet der Niederschlag äusserst feine, membranöse Massen. Er löst sich leicht in Alkalien, beim Erwärmen auch in verdünnten Säuren, schwer — analog der Löslichkeit des Guanins — in Ammoniak. Löst man die Verbindung in Alkali und übersättigt mit Säure, so fällt sie unverändert aus. Wird aber die alkalische Lösung einige Zeit erwärmt, so wird allmälig die Meta- in Orthophosphorsäure übergeführt. Fügt man nunmehr tropfenweise Salzsäure zu, so entsteht, wenn die Lösung neutral ist, eine Fällung von Guanin, das aber, selbst in der Kälte, durch weiteren Zusatz weniger Tropfen Salzsäure leicht in Lösung geht.

Derselbe Niederschlag von Guanin und Metaphosphorsäure entsteht, wenn man eine saure Guaninlösung mit Metaphosphorsäure versetzt. Wendet man eine siedend heisse Lösung an, so erfolgt in verdünnteren Lösungen die Abscheidung des Niederschlages weniger plötzlich, und letzterer erscheint mehr oder weniger krystallinisch. Die Gegenwart gewisser anorganischer Salze beeinträchtigt die Fällung insofern, als der Niederschlag erst nach relativ längerer Zeit sich abscheidet. Concentrirte Salzlösungen wirken auch, wenngleich nur in geringem Grade, lösend ein. Namentlich wirkt in dieser Hinsicht Magnesiumsulfat.

Die Fällung des Guanins durch Metaphosphorsäure ist in allen Fällen eine so vollständige, dass im Filtrat durch Pikrinsäure kein Guanin mehr nachzuweisen ist, während Silberlösung nur eine geringe flockige Ausscheidung hervorruft.

Sollte man nach den Mittheilungen Liebermann's erwarten, dass die Metaphosphorsäure-Verbindung des Guanins sehr unbeständig und von nicht einheitlicher Natur ist, so ergab die nähere Untersuchung gerade das Gegentheil. Nach welcher Weise auch immer die Verbindung dargestellt wurde, sie zeigte stets denselben Gehalt an Phosphor, und im Gegensatz zu anderen sehr zur Dissociation neigenden Salzen des Guanins muss sie als eine constante bezeichnet werden.

Ich habe zunächst in verschiedenen Präparaten Phosphorbestimmungen gemacht. In Präparat I, erhalten durch Fällung einer salzsauren Guaninlösung mit überschüssiger Metaphosphorsäure, betrug der Phosphorgehalt 13,09%; Präparat II, erhalten durch Fällung einer salzsauren Guaninlösung mit einer zur Fällung des gelösten Guanins nicht hinreichenden Menge Metaphosphorsäure, wies einen Gehalt von 12,87% P. auf; im Präparat IIIα, das nach Liebermann durch Fällung von Guaninnatriumlösung mit überschüssiger Metaphosphorsäure erhalten war, betrug der Phosphorgehalt 12,84%; in einem auf dieselbe Weise dargestellten Präparat IIIβ 13,15%. Sämmtliche Phosphorbestimmungen wurden nach Carius' Methode ausgeführt. Zur Fällung wurde z. Th. Metaphosphorsäure des Handels (acid. phosphoric. glaciale), z. Th. eine Säure verwandt, welche durch allmäliges Eintragen von P_2O_5 in Wasser erhalten war. Die Substanzen für die Analyse waren bei 120° getrocknet.

Der mit ziemlicher Genauigkeit übereinstimmende Phosphorgehalt in den verschiedenen Präparaten lässt mit Sicherheit schliessen, dass das Guanin sich mit der Metaphosphorsäure in einem bestimmten Verhältniss verbindet. Die Angaben Liebermann's müssen daher als unrichtig bezeichnet werden. Präparat IIIβ wurde auf folgende Weise erhalten: 0,5 gr. Guanin wurde mit Hülfe von wenigen Tropfen Natronlauge in Wasser gelöst, und die stark verdünnte Lösung mit

einer Lösung von Metaphosphorsäure versetzt, die durch Eintragen von 5 gr. P_2O_5 in Wasser bereitet war. Bei dem grossen Ueberschuss von HPO_3 hätte sich also jenes «Neutralisationspräcipitat» Liebermann's bilden müssen. Gleichwohl betrug der Phosphorgehalt 13,15 %.

Das Natrium, welches Liebermann in dem Niederschlage zu erkennen glaubte, dürfte mechanisch beigemengt gewesen sein. Dies erscheint um so eher erklärlich, als der Niederschlag nur schwer auszuwaschen ist.

Die Analyse der Verbindung ergab die Formel $C_5H_5N_5O, HPO_3 + aq$. Getrocknet stellt die Verbindung ein weisses Pulver dar. Die sich amorph abscheidende Verbindung backt meist beim Trocknen zu einer festen, porzellanartigen Masse zusammen. Sie verbrennt äusserst schwer; auf Platinblech über dem gewöhnlichen Bunsen-Brenner erhitzt, hinterlässt sie eine reichliche Menge einer grossblasigen Kohle, die erst im Gebläse unter Hinterlassung eines reinweissen Rückstandes völlig verbrennt.

Der bei 120° getrockneten Verbindung haftet noch Wasser an, dessen Menge sich bei den zur Analyse verwandten Präparaten auf $^1/_2$ Molekül berechnet. Auf diesen Wassergehalt komme ich an anderer Stelle nochmals zu sprechen.

Analyse der bei 120° getrockneten Verbindung:

0,3375 gr. gaben 0,3095 CO_2 u. 0,101 gr. H_2O.
0,16 gr. gaben 38,6 cbcm. N bei 17,2 T u. 777,5 B.
0,196 gr. wurden zu einer Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl verwandt; verbraucht wurden zur Sättigung des Destillates 39,95 cbcm. $^1/_{10}$ N-Oxalsäure.

Berechnet für: $C_5H_5N_5O, HPO_3 + {}^1/_2 H_2O$:		Gefunden:
C	25,00	25,01
H	2,92	3,32
N	29,16	28,62 28,54
P	12,92	13.09 12,87 12,84 13,15

Liebermann hat bekanntlich die Hypothese aufgestellt, dass das Nuclein metaphosphorsaures Eiweiss sei, welches die metaphosphorsauren Salze der stickstoffreichen Basen als mechanische Beimengung enthalte. Obgleich diese Ansicht schon als widerlegt zu betrachten ist, so dürfte es doch der Erwähnung werth sein, dass die Löslichkeitsverhältnisse des metaphosphorsauren Guanins sich mit dieser Hypothese nicht vereinigen lassen. Metaphosphorsaures Guanin ist z. B. in Ammoniak sehr schwer löslich, Nuclein hingegen löst sich mit der grössten Leichtigkeit in sehr verdünnter Ammoniakflüssigkeit auf.

Auch das Adenin bildet mit der Metaphosphorsäure eine analoge Verbindung. Näheres hierüber Seite 39.

Verbindungen des Guanins mit Säuren und Basen.

Guaninsilberpikrat $C_5H_4AgN_5O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH + 1^1/_2H_2O$.

Siedend heisse verdünnte Guaninsalzlösungen werden durch Pikrinsäure nicht sogleich gefällt, da sich das Guaninpikrat in der Hitze in reichlicher Menge löst. Versetzt man eine solche Lösung, in der sich das Guaninpikrat noch nicht abgeschieden hat, mit einer Lösung von Silbernitrat, so bildet sich — natürlich ist die Gegenwart von Salzsäure ausgeschlossen — auf der Stelle ein citronengelber, voluminöser, amorpher Niederschlag, der sich bald zu Boden setzt. Trägt man Sorge, dass ein Ueberschuss von Pikrinsäure im Verhältniss zum Guanin vorhanden ist, sodass eine gleichzeitige Abscheidung von Guaninsilbernitrat ausgeschlossen ist, so entspricht der entstehende Niederschlag lufttrocken der Formel $C_5H_4AgN_5O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH + 1^1/_2H_2O$.

Die Verbindung ist in heissem Wasser sehr schwer löslich, in kaltem nahezu unlöslich; sie neigt jedoch zur Dissociation, indem durch Berührung mit Wasser ihr ein Theil der Pikrinsäure entzogen wird. Durch Einwirkung von Ammoniak kann die Pikrinsäure leichter und fast vollständig entfernt werden, sodass schwach gelb gefärbtes Guaninsilber restirt.

Das für die Analyse dargestellte Präparat wurde nicht mit Wasser ausgewaschen, es wurde die Fällung in sehr verdünnter Lösung vorgenommen, der Niederschlag abfiltrirt, gut abgesaugt und zwischen Fliesspapier gepresst.

Analyse:

0,9365 gr., lufttrocken, verloren beim Trocknen bis 130° 0,052 gr.
0,5152 gr., » » » » » » 0,0275 gr.

0.138 gr., bei 130° getrocknet, gaben durch Glühen 0,0308 gr. Ag.
0,1865 gr., » » » » » » 0,0411 gr. Ag.

0,7606 gr., bei 130° getrocknet, wurden mit sehr stark verdünnter Salzsäure digerirt, heiss vom Chlorsilber abfiltrirt. Die Menge des aus dem Filtrat abgeschiedenen Guaninpikrates betrug, bei 110° getrocknet, 0,5803 gr.[1]).

0,125 gr., bei 130° getrocknet, gaben 23,9 cbcm. N bei 773 B u. 16 T.

Berechnet für: $C_5H_4AgN_5O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH$:		Gefunden:
Ag	22,18	22,32 22,04
$C_5H_5N_5O$	31,01	30,32
N	23,00	22,67 %

Die Formel $C_5H_4AgN_5O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH + 1^1/_2\ H_2O$ verlangt 5,25 % Krystallwasser; gefunden wurden 5,55 und 5,34 %.

Verbindung $C_5H_5N_5O$, HJ, $2BiJ_3 + 2H_2O$.

Guaninsalzlösungen werden selbst in sehr verdünnten Lösungen durch eine Lösung von Kaliumwismuthjodid gefällt.

Die von mir untersuchte Verbindung wurde in der Weise erhalten, dass zu einer heissen jodwasserstoffsauren Guaninlösung eine Lösung von Kaliumwismuthjodid zugefügt wurde. Letztere war nach der Vorschrift von Kraut[2]) bereitet, so zwar, dass Wismuthnitrat in möglichst wenig verdünnter Salpetersäure gelöst, und dieser Lösung allmälig eine Jodkali-Lösung bis zum Verschwinden des anfangs entstehenden Niederschlages zugefügt wurde. In der Guaninlösung, die in der Wärme zunächst klar blieb, begann alsbald

[1]) cfr. S. 28.
[2]) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 210, S. 310.

mit dem Erkalten eine Abscheidung von rothen Krystallen, und nach 24 Stunden war die Flüssigkeit in einen Krystallbrei verwandelt. Unter dem Mikroskop erschienen die Krystalle als feine, ziemlich lange, rothe Nadeln. Beim Absaugen schrumpft die sehr voluminöse krystallinische Ausscheidung ausserordentlich zusammen und stellt lufttrocken eine lockere, tiefrothe Masse dar. Beim Erhitzen nimmt sie schon unter 100° unter Wasserverlust eine schwarzviolette Farbe an. Mit Wasser lässt sich die Verbindung nicht gut ohne Zersetzung in Berührung bringen, es tritt alsbald, indem gleichzeitig die tiefrothe Farbe einer helleren, ziegelrothen Platz macht, Zersetzung ein.

Die von Jörgensen[1]) empfohlene Methode zur Analyse der Jodwismuthverbindungen durch Kochen derselben mit Ammoniumcarbonat und Bestimmung des Jods als Jodsilber im Filtrat erwies sich für vorliegende Verbindung nicht recht geeignet; ebenso zeigte sich, dass das durch Schwefelwasserstoff aus der schwefelsauren Lösung des Doppelsalzes gefällte Schwefelwismuth reichliche Mengen Jod enthielt, sodass auch eine Wismuthbestimmung auf diese Weise nicht möglich war.

Ich verfuhr daher in der Weise, dass ich die Verbindung durch Erhitzen im geschlossenen Rohr nach Carius' Methode unter Zugabe von $AgNO_3$ mit rauchender Salpetersäure zersetzte. Das Jod wurde als Jodsilber bestimmt, das überschüssige Silber durch Salzsäure gefällt, und im Filtrat das Wismuth als Bi_2O_3 bestimmt.

Analyse:

0,855 gr., bei 100° getrocknet, lieferten 0,9589 AgJ u. 0,2673 Bi_2O_3.

Berechnet für: $C_5H_5N_5O$, HJ, 2 BiJ_3:		Gefunden:
J	61,06	60,61
Bi	28,50	28,02

Das Krystallwasser berechnet sich nach der Formel $C_5H_5N_5O$, HJ,2BiJ_3 + 2H_2O auf 2,47%, während 2,59 und 2,34% gefunden wurden.

[1]) Annal. d. Chemie u. Pharm., Bd. 210, S. 312.

Ester des Guanins.

Das Guanin ist im Stande, an Stelle eines Wasserstoffatoms ein Säureradikal aufzunehmen, wodurch gut krystallisirende esterartige Verbindungen entstehen. Die Anlagerung des Acetyl- und Propionyl-Radikals gelang ziemlich leicht, schwer die Anlagerung der Benzoylgruppe. Resultatlos verliefen Versuche zur Darstellung eines Phtalyl-Guanins.

Acetyl-Guanin $C_5H_4N_5O\,CO\,CH_3$

Gut getrocknetes und fein gepulvertes Guanin wurde mit der zehnfachen Menge Essigsäure-Anhydrid zunächst auf 125°, dann längere Zeit bis zum schwachen Sieden des Anhydrids erhitzt. Beim Erkalten des Reactionsgemisches zeigten sich neben unverändert gebliebenem Guanin kleine Krystallgebilde. Das überschüssige Anhydrid wurde durch wiederholtes Schütteln mit Aether entfernt, und der Rückstand, bestehend aus Guanin und Acetyl-Guanin, mit Wasser ausgekocht. Aus dem heissen Filtrat schieden sich beim Erkalten kleine, farblose, seidenglänzende Nadeln ab, welche nochmals aus starkwässerigem Alkohol umkrystallisirt wurden.

Das Acetylguanin löst sich sehr schwer in kaltem Wasser — in ca. 4000 Theilen —, noch schwerer in kaltem Alkohol, in Aether ist es nahezu unlöslich. In der Siedehitze löst es sich in ca. 150 Theilen Wasser, weniger leicht in heissem Alkohol. Durch verdünnte Säuren und Alkalien, auch durch Ammoniak wird es mit Leichtigkeit gelöst, zumal beim Erwärmen. Durch Einwirkung von Säuren und Alkalien in der Hitze tritt alsbald völlige Verseifung ein; löst man dagegen die Verbindung in kalter verdünnter Natronlauge und leitet Kohlensäure ein, so fällt sie unzersetzt wieder aus. Ebenso ist der Ester gegen Wasser, selbst in der Siedehitze, beständig: ich überzeugte mich, dass aus einer wässerigen Lösung, die längere Zeit im Sieden erhalten wurde, beim Erkalten nur wohlausgebildete Kryställchen, aber kein amorphes Guanin sich abschied.

Bis 260° erhitzt, bleibt die Verbindung äusserlich unverändert.

Analyse:

0,2235 gr., bei 105° getrocknet, gaben 0,3557 gr. CO_2 u. 0,0775 gr. H_2O.
0,1455 gr., » » » » 45,3 cbcm. N bei 18,4 T u. 776 B.

Berechnet für: $C_5H_4N_5OCOCH_3$:		Gefunden:
C	43,52	43,40
H	3,63	3,85
N	36,27	36,65

Propionyl-Guanin $C_5H_4N_5O\,COCH_2CH_3$.

3 gr. gut getrocknetes und fein gepulvertes Guanin wurden in einem Kölbchen mit 15 gr. Propionsäure-Anhydrid am Rückflusskühler 6 Stunden lang gekocht. Das erkaltete Reactionsgemisch wurde, nachdem das überschüssige Anhydrid durch Entäthern entfernt war, mit Wasser ausgekocht. Es zeigte sich, dass der bei weitem grössere Theil des angewandten Guanins nicht in Reaction getreten war, mithin beim Auskochen mit Wasser ungelöst blieb, während der kleinere Theil als Propionylguanin in Lösung ging und sich beim Erkalten in eigenartig ausgebildeten Krystallen abschied. Unter dem Mikroskope erschienen diese als meist etwas längliche Blättchen oder Schuppen mit häufig gezackten Rändern. Die sehr voluminöse Krystall-Ausscheidung schrumpft beim Absaugen sehr zusammen und bildet getrocknet eine leichte, filzartige, weisse Masse von perlmutterartigem Glanz.

Die Eigenschaften des Propionyl-Guanins entsprechen im Uebrigen denen der analogen Acetyl-Verbindung. Bis 260° erhitzt, verändert es äusserlich seine Eigenschaften nicht.

Analyse:

0,278 gr., bei 105° getrocknet, gaben 0,4695 gr. CO_2 u. 0,112 gr. H_2O.
0,1163 gr., » » » » 35,1 cbcm. N bei 23 T u. 764 B.

Berechnet für: $C_5H_4N_5OCOCH_2CH_3$:		Gefunden:
C	46,37	46,06
H	4,35	4,48
N	33,82	34,19

Benzoyl-Guanin. $C_5H_4N_5O\,COC_6H_5$.

Hatte sich schon bei der Darstellung der Propionylverbindung ergeben, dass das Propionsäureanhydrid weit

weniger energisch auf das Guanin einwirkt, als das Anhydrid der Essigsäure, so treten analoge Erscheinungen in noch höherem Grade hervor bei der Darstellung des Benzoylguanins.

1 gr. scharf getrocknetes Guanin wurde mit 5 gr. Benzoesäure-Anhydrid innig verrieben, und das Gemisch in einem trockenen Reagensglase längere Zeit auf 100° erhitzt. Beim Erkalten erstarrte die Schmelze zu einem gummiartigen, undurchsichtigen Kuchen. Derselbe wurde fein verrieben, durch wiederholtes Behandeln mit Aether das Anhydrid völlig entfernt, das restirende Product mit Wasser ausgekocht und filtrirt. Aus dem Filtrat schieden sich beim Erkalten kleine Kryställchen von Benzoyl-Guanin aus, die dem unbewaffneten Auge als kleine, rundliche Körnchen erschienen, unter dem Mikroskop betrachtet, aus feinen, meist sternartig oder büschelförmig gruppirten Nadeln bestanden.

Die Ausbeute war nur gering, indem nur ca. 0,2 gr. des Benzoylderivates erhalten wurden.

Ich habe diese Versuche mehrfach wiederholt, ohne ein besseres Resultat hinsichtlich der Ausbeute zu erzielen. Auch durch Einschliessen von Guanin mit Benzoesäureanhydrid in ein Rohr und Erhitzen auf 150—180° (bald über 200° tritt Bräunung ein) wurde eine wesentlich bessere Ausbeute nicht erhalten.

Versuche, die Verbindung durch Einwirkung von Benzoylchlorid auf Guanin oder Guaninsilber zu erhalten, verliefen resultatlos. Desgleichen wurde constatirt, dass, was vorauszusehen war, die Schotten-Baumann'sche Methode zur Benzoylirung des Guanins nicht anwendbar ist.

Das Benzoylguanin löst sich schwer in heissem Wasser und Alkohol, in Aether ist es unlöslich. Es zersetzt sich unter Braunfärbung erst bei sehr hoher Temperatur. Gegen Wasser, selbst in der Siedehitze, ist die Verbindung ziemlich constant; schneller tritt durch Einwirkung von verdünnten Säuren in der Hitze Verseifung ein.

Analyse:

0,182 gr., bei 100° getrocknet, gaben 0,3729 gr. CO_2 u. 0,063 gr. H_2O.
0,0587 gr., » » » » 14,1 cbcm. N bei 760,5 u. 19,5 T.

	Berechnet für $C_5H_4N_5OCOC_6H_5$:	Gefunden:
C	56,47	55,88
H	3,53	3,84
N	27,45	27,55

Ueber Alkylderivate des Guanins.

Ich erwähnte bereits S. 6 die Versuche von E. Fischer und Reese, welche darauf gerichtet waren, Alkylderivate des Guanins zu erhalten. Die Darstellung dieser musste aus dem Grunde von Wichtigkeit sein, als es durch Spaltung dieser Körper gelingen musste, eine völlige Aufklärung über die Constitution des Guanins zu erhalten, d. h. die noch unentschiedene Frage zu beantworten, an welcher Stelle sich die Guanidingruppe befindet, ob also die in Fig. I oder Fig. II angedeutete Constitutionsformel die richtige ist.

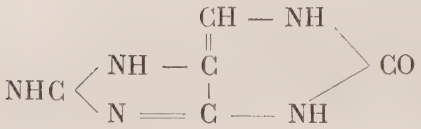


Fig. 1.

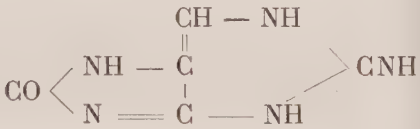


Fig. 2.

Die Versuche, die Fischer und Reese in dieser Hinsicht anstellten, bestanden darin, dass sie Jodmethyl auf die Silber- und Bleiverbindung des Guanins einwirken liessen. Die Reaction verlief nicht im gewünschten Sinne, dieselbe war vielmehr so complexer Natur, dass die entstandenen Producte nicht untersucht werden konnten.

Ich habe nun versucht, ob es auf andere Weise möglich sei, zu Alkylverbindungen des Guanins zu gelangen. Leider waren auch meine Versuche nur theilweise von Erfolg begleitet.

Zunächst liess ich Benzylchlorid auf Guanin einwirken, so zwar, dass ich eine Lösung von Guanin in verdünnter Natronlauge mit Benzylchlorid (1 Molekül des letzteren auf

1 Molekül Guanin) in wässerig-alkoholischer Lösung mehrere Stunden am Rückflusskühler kochte. Die Mischung färbte sich braungrün bis grün. Nach dem Verjagen des Alkohols wurde mit HCl neutralisirt. Es zeigte sich, dass auch hier die Reaction nicht einheitlich verlaufen war: das ausgeschiedene Product konnte von der grossen Menge der harzigen Beimengungen nicht befreit werden, sodass ein analysenreiner Körper nicht zu erhalten war.

Ebensowenig war es möglich, durch Kochen von Benzylchlorid mit Guanin — auf analoge Weise hatte Thoiss[1]) ein Benzylderivat des Adenins mit Leichtigkeit erhalten — zu einer Benzylverbindung des Guanins zu gelangen, indem hier alsbald ein Verharzen des Gemisches eintrat.

Von Erfolg begleitet war der Versuch der Darstellnng eines Aethyl-Guanins.

4,5 gr. Guanin wurden in 2 gr. NaOH und 120 gr. H_2O gelöst, der Lösung eine Mischung von 5 gr. Jodäthyl und 360 gr. Alkohol zugegeben, das Gemisch mehrere Stunden am Rückflusskühler gekocht. Es war die Menge des Jodäthyls so gewählt, dass ein H des Guanin-Moleküls durch C_2H_5 substituirt werden sollte. Das Reactionsgemisch wurde mit HCl schwach angesäuert und mit Ammoniak wieder schwach alkalisch gemacht. Es trat eine reichliche Fällung ein. Der Alkohol wurde nun verdunstet, das ausgeschiedene Product abfiltrirt, mit Wasser ausgewaschen und mit einer grossen Menge Wasser ausgekocht. Beim Erkalten des Filtrats setzte sich ein voluminöser Niederschlag zu Boden. Unter dem Mikroskop erblickte man kleine nadelförmige Krystalle neben amorphen aus Guanin bestehenden Körnchen. Durch mannigfaches Umkrystallisiren wurde schliesslich ein reines Aethyl-Guanin erhalten.

Getrocknet bildet die Verbindung eine leichte, weisse Masse. Sie löst sich schwer in Wasser, sehr schwer in Alkohol, leicht in Mineralsäuren. Als Derivat des Guanins zeigt sie im Wesentlichen dieselben Reactionen wie die Mutter-

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 13, S. 396.

substanz: sie liefert eine in Ammoniak sehr schwer lösliche Silberverbindung, ein schön krystallisirendes Pikrat u. s. w.

Die siedend heisse wässerige Lösung wird durch Goldchlorid gefällt. Bis 280° erhitzt, zeigte die Verbindung sich äusserlich nicht verändert.

Analyse:

0,2688 gr., bei 100° getrocknet, gaben 0,4589 gr. CO_2 u. 0,1243 gr. H_2O.

Berechnet für: $C_5H_4N_5OC_2H_5$:		Gefunden:
C	46,93	46,55
H	5,03	5,13

Meine weiteren Versuche waren nun darauf gerichtet, ein Dimethylderivat des Guanins zu erhalten. Ich liess zu dem Zwecke 2 Moleküle Jodmethyl unter gleichen Bedingungen auf ein Molekül Guanin einwirken. Die Reaction verlief jedoch hier nicht im gewünschten Sinne: es wurde neben einem schwer löslichen Körper, der nach einer Stickstoffbestimmung ein Monomethylguanin darzustellen schien, eine leicht lösliche Verbindung erhalten. Dieselbe erwies sich durch die Analyse als ein nicht einheitlicher Körper. Er enthielt, obwohl ihm keine Spuren von Jodnatrium anhafteten, eine nicht unbeträchtliche Menge Jod. Es musste also mit grosser Wahrscheinlichkeit ein methylirtes Guanin mit angelagertem Jodmethyl vorliegen. Ein einheitlicher, analysenreiner Körper konnte daraus nicht erhalten werden.

Da mein Vorrath an Guanin ziemlich verbraucht war, ein weiteres erfolgreiches Eindringen in das Gebiet der Alkylderivate des Guanins aber nach den gemachten Erfahrungen, wenn überhaupt auf dem eingeschlagenen Wege, so doch nur mit Aufwendung von grossen Mengen Guanin möglich zu sein schien, habe ich diese Untersuchungen abbrechen müssen.

Quantitative Bestimmung des Guanins als Guaninpikrat.

Gelegentlich der Besprechung des Guaninpikrates hob ich bereits die geringe Löslichkeit desselben hervor, die es

möglich macht, dass verdünnte Guaninlösungen noch im Verhältniss von 1:30000 gefällt werden. Es musste daher die Möglichkeit vorhanden sein, das Guanin aus sauren und neutralen Lösungen durch Pikrinsäure bei Abwesenheit von anderen durch letztere ebenfalls fällbaren Substanzen nahezu quantitativ zu fällen und als Guaninpikrat zu bestimmen. Eine für diesen Zweck nachtheilige Eigenschaft des Pikrates ist die Neigung zur Dissociation, die ihm wie den meisten Guaninsalzen eigen ist.

Gleichwohl ist man nach folgendem, von mir erprobten Verfahren in der Lage, mit hinreichender Genauigkeit das Guanin in Form seines Pikrates quantitativ zu bestimmen.

Man versetzt die neutrale oder saure Lösung, in der das Guanin bestimmt werden soll, mit einer zur Fällung ausreichenden Menge kalt gesättigter Pikrinsäure-Lösung. Ein Ueberschuss letzterer ist an und für sich unschädlich; es ist hier aber in Erwägung zu ziehen, dass die Löslichkeit der Pikrinsäure in stark sauren Lösungen eine beträchtlich geringere ist als in neutralen, und dass daher eventl. eine Abscheidung von Pikrinsäure erfolgen kann. Man nimmt die Fällung am besten in der Wärme vor, da sich dann das Pikrat besser krystallisirt abscheidet. Nach Verlauf von 24 Stunden wird abfiltrirt. Ein früheres Abfiltriren empfiehlt sich nicht, da die vollständige Abscheidung des Pikrates erst allmälig erfolgt. Man saugt das auf das Filter gebrachte Pikrat gut ab und wäscht es mit 1procentiger Pikrinsäure-Lösung aus. Nach abermaligem Absaugen nimmt man es dann vom Filter herunter, bringt es zwischen Uhrgläschen und trocknet es bei allmälig steigender Temperatur, zuletzt zur Vertreibung des Krystallwassers $1^1/_2$ Stunde bei 110°. Da das Pikrat sehr voluminös ist, gut krystallisirt und nach dem Absaugen eine zusammenhängende filzige Masse bildet, so lässt es sich ohne nennenswerthen Verlust vom Filter herunternehmen. Die seit einiger Zeit im Handel befindlichen sogenannten gehärteten Filter sind hierfür besonders geeignet, da sie sowohl wegen ihrer Glätte ein sehr vollständiges Ab-

nehmen des Pikrates vom Filter ermöglichen, als auch weil sie wegen ihrer Stärke ein gutes Absaugen des Pikrates gestatten. Aus dem bei 110° getrockneten Pikrat, das die Formel $C_5H_5N_5O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH$ hat, berechnet man die Menge des Guanins. Es ergibt sich natürlich ein geringes Plus, herrührend von der dem Pikrat anhaftenden Pikrinsäure. Hat man das feuchte Pikrat, nachdem es zwischen die Uhrgläschen gebracht ist, vor dem Trocknen ebenfalls gewogen, so lässt sich dieses Plus aus der Gewichtsdifferenz des feuchten und des getrockneten Pikrates unter gleichzeitiger Berücksichtigung des Umstandes, dass dasselbe beim Trocknen noch 1 Molekül Krystallwasser verliert, leicht berechnen und in Abzug bringen. Das Pikrat mit dem Filter zu trocknen, empfiehlt sich nicht, da das mit Pikrinsäure imprägnirte Filtrirpapier bei höherer Temperatur angegriffen wird.

Im Folgenden führe ich Versuche an, welche ich nach dieser Methode ausführte, und bei denen die verschiedensten Fälle berücksichtigt sind.

No.	Angewandtes Guanin.	Lösungsmittel.		Erhaltenes Guanin.	Minus.	Filtrat in cbcm.	Minus für 100 cbcm. Filtrat.
		Säure.	Wasser.				
I.	0,0782	1 gr. HCl[1])	75	0,072	0.0062	150	0,0041
II.	0,441	2 gr. H_2SO_4	150	0,432	6,009	250	0,0036
III.	0,2722	2 gr. HNO_3	50	0,27	0,0022	100	0,0022
IV.	0,1895	1 gr. HNO_3	100	0,184	0,0055	175	0,0031
V.	0,4065	6 gr. HCl	100	0,4	0,0065	200	0,0033
VI.	0,113	1 gr. HNO_3	100	0,105	0,008	200	0,004
VII.	0,119	2 gr. HNO_3	50	0,115	0,004	100	0,004
VIII.	0,0865	1 gr. HCl	100	0,0812	0,0053	150	0,0036
IX.	0,094	0,5 gr. HCl	75	0,089	0,005	150	0,0036
X.	0,061	2 gr. H_2SO_4	100	0,0054	0,007	150	0,0047

Aus dieser Tabelle erhellt, dass die Fällbarkeit des Guanins durch Pikrinsäure, nicht durch die Menge der in

[1]) HCl. spec. Gew. 1,19; HNO_3 spec. Gew. 1,4.

Lösung vorhandenen Säure beeinflusst wird. Die letzte Spalte der Tabelle weist eine ziemlich constante Zahl auf, sodass man aus dieser Spalte eine Correcturzahl für das erhaltene Resultat berechnen kann. Nimmt man an, dass in 100 cbcm. Flüssigkeit 0,0035 gr. Guanin gelöst bleiben und bringt eine entsprechende Correctur an, so wird man nach dieser Methode hinreichend gute Resultate erzielen.

Bruhns[1]) hat das Adeninpikrat für eine quantitative Bestimmungsmethode des Adenins verwerthet. Dieses Salz ist ebenfalls äusserst schwer löslich und bietet gegenüber dem Guaninpikrat den Vortheil, dass es nicht dissociirt, daher mit Wasser ausgewaschen werden kann, und dass seine Abscheidung schneller, ja fast momentan erfolgt. Die Pikrate der beiden anderen Nucleinbasen galten bisher als leicht lösliche Salze. Bruhns konnte das Adenin selbst bei Gegenwart von Hypoxanthin quantitativ durch Pikrinsäure fällen, und im Filtrat das Hypoxanthin anderweitig bestimmen. Vom Hypoxanthinpikrat sagt Bruhns[2]), dass es gelbe, in Wasser leicht lösliche Prismen darstelle. Es musste daher möglich sein, wenn man Guanin, Adenin, Xanthin und Hypoxanthin gemeinsam in Lösung hat, erstere beiden, bei Abwesenheit von Adenin das Guanin allein von den beiden letztgenannten Basen durch Pikrinsäure quantitativ zu trennen.

Leider habe ich aus Mangel an dem überaus kostbaren Xanthin meine Untersuchungen in dieser Hinsicht nur auf Adenin und Hypoxanthin, von welchen beiden Basen mir eine geringe Menge zur Verfügung stand, ausdehnen können.

Bei Versuchen, aus einer Lösung von Hypoxanthin und Guanin letzteres durch Pikrinsäure nach der angegebenen Methode quantitativ zu trennen, erhielt ich immer ein bedeutendes Plus des abgeschiedenen Pikrates. Es musste also Hypoxanthin mitgefallen sein. Desgleichen wies ein Versuch der Trennung des Adenins vom Hypoxanthin nach der Me-

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 14, S. 540.
[2]) Ebendaselbst, S. 545.

thode von Bruhns, bei welchem mit dem Abfiltriren des Pikrates 24 Stunden gewartet wurde, ein beträchtliches Plus des letzteren auf. Ich stellte nunmehr fest, wie sich das Hypoxanthin allein gegen Pikrinsäure verhält. Das für diese Versuche verwandte Hypoxanthin war ein vollkommen reines Präparat. Eine Stickstoffbestimmung ergab einen Gehalt von 41,32% N, während die Formel $C_5H_4N_4O$ 41,17% verlangt.

Ich löste 0,141 gr. Hypoxanthin unter Zusatz von einigen Tropfen verdünnter Salzsäure in Wasser auf und fügte der heissen Lösung Natriumpikrat zu. Die ca. 80 gr. betragende Flüssigkeitsmenge blieb zunächst klar, beim Erkalten begann jedoch eine allmälige Ausscheidung von gelben Krystallen. Nach fünfzehn Stunden bedeckte den Boden des Becherglases eine reichliche Menge von Hypoxanthinpikrat. Lufttrocken betrug dieselbe 0,289 gr. Bei einem zweiten Versuch erhielt ich aus 0,137 gr. Hypoxanthin, in 50 cbcm. H_2O gelöst, 0,354 gr. lufttrockenen Pikrates, das sich innerhalb 36 Stunden abgeschieden hatte.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, dass das Hypoxanthinpikrat, wenn es auch nicht den Grad der Unlöslichkeit zeigt wie die Pikrate des Adenins und des Guanins, ein ebenfalls schwer lösliches Salz ist. Seine Abscheidungen aus verdünnten Lösungen erfolgt jedoch erst allmälig. Eine Analyse des Salzes gebe ich im Anhang.[1])

Wenn Bruhns trotzdem gute Resultate nach seiner Methode erzielt hat, so erklärt sich dies einerseits daraus, dass er immer nur mit sehr geringen Mengen Hypoxanthin gearbeitet hat — nur in einem Falle betrug die Menge desselben über 0,1 gr. —, andererseits daraus, dass er vermuthlich das abgeschiedene Adeninpikrat sogleich abfiltrirt hat, ehe aus den sehr verdünnten Lösungen die Ausscheidung von Hypoxanthinpikrat erfolgt war.

Ich bin weit davon entfernt, die Methode von Bruhns beanstanden zu wollen. Es muss aber, was Bruhns nicht

[1]) S. 38.

angibt, bei Anwendung derselben zweierlei berücksichtigt werden. Erstens muss man das Adeninpikrat alsbald nach der Fällung abfiltriren, sodann darf die angewandte Lösung hinsichtlich ihres Gehaltes an Hypoxanthin nicht zu concentrirt sein.

Eine Trennung des Guanins vom Hypoxanthin durch Pikrinsäure ist also nach dem Gesagten nicht möglich.

Auf ein charakteristisches Verhalten des Adeninpikrates will ich an dieser Stelle noch aufmerksam machen. Während die Gegenwart anderer Salze nur von geringem Einfluss auf die Löslichkeit desselben zu sein scheint, löst sich dies mit Leichtigkeit in einer Lösung von Natriumphosphat. Aus einer solchen Lösung scheidet sich dasselbe jedoch auf Zusatz von Salzsäure wieder aus.

0,052 gr. Adenin wurden unter Zugabe von 3 Tropfen verdünnter Salzsäure in Wasser gelöst und der 100 gr. betragenden Flüssigkeitsmenge 2 gr. Natriumphosphat zugesetzt. Es zeigte sich, dass weder bei Zusatz von Pikrinsäure noch von Natriumpikrat ein Niederschlag erfolgte. Als nunmehr allmälig Salzsäure zugesetzt wurde, entstand eine im Verhältniss der Menge der zugesetzten Säure immer reichlicher werdende Abscheidung von Adeninpikrat. Ich erhielt schliesslich 0,129 Pikrat (bei 100° getrocknet), woraus sich 0,048 gr. Adenin berechnen, sodass also die Fällung unter Annahme der von Bruhns angegebenen Correcturzahl eine ziemlich normale war.

Da man bei der Isolirung der Nucleinbasen aus den Organen mit der Gegenwart von Phosphorsäure zu rechnen hat, und man die Pikrinsäure bezw. Natriumpikrat mit Vorliebe auch zum qualitativen Nachweis des Adenins benutzen wird, so darf diese Mittheilung nicht werthlos erscheinen.

Auch auf andere Adeninverbindungen wirkt, wie ich mich überzeugte, das Natriumphosphat lösend ein, so z. B. auf das Adeninmetaphosphat. Bemerkenswerth ist, dass auch die Harnsäure in reichlichen Mengen von Natriumphosphat gelöst wird.

Ueber die Anwendbarkeit der Metaphosphorsäure zur Trennung des Guanins vom Hypoxanthin und Adenin.

Dass es bei der grossen Aehnlichkeit der Nucleinbasen und ihrer Verbindungen mit grossen Schwierigkeiten verknüpft sein muss, eine genaue Trennungsmethode derselben ausfindig zu machen, kann nicht Wunder nehmen.

Eine im Ganzen bewährte Methode, das Xanthin von den drei übrigen Basen zu trennen, beruht auf dem verschiedenen Verhalten der Silberverbindungen derselben gegen Salpetersäure vom spec. Gew. 1,1. In der Siedehitze lösen sich hierin die Silberverbindungen aller vier Basen auf, beim Erkalten bleibt das Xanthinsilbernitrat gelöst, während die Doppelverbindungen der drei anderen Basen nahezu quantitativ ausfallen. Zersetzt man letztere Verbindungen mit verdünnter Salzsäure, so hat man ein Gemenge der drei Basen in saurer Lösung. Man fällte diese Lösung nun mit überschüssigem Ammoniak in der Siedehitze, um hierdurch das Guanin abzuscheiden. Im Filtrat konnte dann die Trennung des Adenins vom Hypoxanthin nach der Methode von Bruhns vorgenommen werden.

Ein Stein des Anstosses bei diesem Verfahren ist, dass das Guanin in Ammoniaklösung, zumal in der Wärme, in zu reichlicher Menge löslich ist.

Ich habe daher versucht, die Metaphosphorsäure an Stelle des Ammoniaks zur Trennung des Guanins vom Adenin und Hypoxanthin zu benutzen. Zunächst stellte ich Versuche an, wie vollkommen die Fällung des Guanins durch Metaphosphorsäure in schwach sauren Lösungen sei. Lösungen von Metaphosphorsäure bereitete ich für diesen Zweck durch allmäliges Eintragen von P_2O_5 in Wasser. Hiermit wurden die schwach sauren Lösungen mit einem bestimmten Gehalt an Guanin gefällt, nach 24 Stunden das abgeschiedene Metaphosphat abfiltrirt, mit kaltem Wasser ausgewaschen, mit dem Filter bei 110° getrocknet und gewogen. Aus der Menge des erhaltenen Metaphosphats wurde nach der Formel $C_5H_5N_5O\,HPO_3 + {}^1/_2H_2O$ die Menge des wiedererhaltenen Guanins berechnet. In allen Fällen entstand im Filtrat durch

Zusatz von ammoniakalischer Silberlösung nur eine leichte flockige Ausscheidung.

Den Ausfall meiner Versuche veranschaulicht folgende Tabelle:

Angewandtes Guanin.	Wiedererhaltenes Guanin.
0,1296	0.123
0,162	0.161
0,1303	0,123
0,135	0,1365
0,3343	0 326
0,47	0,475
0,1287	0,122
0,593	0,595
0,5415	0,536

Man kann aus diesen Versuchen entnehmen, dass es nicht möglich ist, auf diese Weise vollkommen genaue Resultate zu erzielen; auch scheint es nicht angängig, dieselben durch Anbringen einer Correcturzahl genauer zu gestalten. Dass die Resultate eine grössere Genauigkeit nicht ergeben, scheint einerseits darin zu liegen, dass ein unvollständiges Auswaschen des Metaphosphats – infolge seiner äusseren Beschaffenheit kann dasselbe nur mit Aufwendung von Zeit und Mühe völlig ausgewaschen werden — leicht ein etwas zu hohes Resultat liefern kann, andererseits scheint das dem bei 110° getrockneten Metaphosphat anhaftende Wasser nicht immer ein halbes Molekül zu betragen, sodass hierdurch ebenfalls die Genauigkeit des Resultates beeinträchtigt wird. Diesen nicht immer völlig constanten Wassergehalt der bei 110° getrockneten Verbindung habe ich mir in folgender Weise erklärt: Gehen überhaupt die Metaphosphate durch Kochen in wässerigen Lösungen allmälig in Orthophosphate über, so muss diese Neigung zur Hydratisirung bei dem Metaphosphat des Guanins, einer schwachen Base, besonders gross sein. Die Annahme dürfte daher gerechtfertigt erscheinen, dass das Guaninmetaphosphat, das vermuthlich als ein Salz $C_5H_5N_5O.HPO_3$ ausfällt, wenn nicht schon in der

Kälte beim Auswaschen mit Wasser, so doch beim Trocknen bei höherer Temperatur durch Einwirkung des mechanisch noch anhaftenden Wassers, zum Theil in Orthophosphat übergeht. Nach dieser Annahme würde also das Molekulargewicht des Phosphats zwischen 231 und 249 liegen können. Aus diesem Grunde habe ich auch die Formel der Verbindung an früherer Stelle[1]) absichtlich $C_5H_5N_5O$, $HPO_3 + xH_2O$ angegeben, wobei x jedoch in keinem Falle den Werth von 1 übersteigt.

Ist man somit auch nicht in der Lage, mit vollkommener Genauigkeit aus der Menge des erhaltenen Metaphosphats das Guanin berechnen zu können, so ist es doch von Wichtigkeit, dass das Guanin in der angegebenen Weise durch Metaphosphorsäure bis auf wenige Milligramm, welche gelöst bleiben, ausgefällt wird. Auf etwas umständlichere Weise wird man daher, wenn es sich neben einer qualitativen Abscheidung auch um eine quantitative Bestimmung handelt, genauere Resultate erzielen, wenn man das abgeschiedene Metaphosphat zu einer Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl verwendet, und aus dem so ermittelten Stickstoffgehalt die Menge des erhaltenen Guanins berechnet. Man verfährt dann, wie folgt: Man spült den auf dem Filter gesammelten Niederschlag, der in diesem Falle weniger vollkommen ausgewaschen zu werden braucht, mit Wasser in den Kolben, in dem die Zerstörung mit Schwefelsäure vorgenommen werden soll, kocht das Filter mit nicht zu verdünnter Schwefelsäure aus und bestimmt in den gemischten Flüssigkeiten den Stickstoffgehalt nach dem Kjeldahl'schen Verfahren. Ein so ausgeführter Versuch ergab folgendes Resultat: 0,156 gr. Guanin wurden in 100 cbcm. Wasser mit Hülfe einiger Tropfen Salzsäure gelöst und durch HPO_3 gefällt. Das abgeschiedene Metaphosphat, mit Schwefelsäure und Kaliumpermanganat zerstört, lieferte mit NaOH ein Destillat, das 50,5 cbcm. $^1/_{10}$ N-Oxalsäure zur Sättigung gebrauchte, woraus sich die Menge des wiedererhaltenen Guanins auf 0,1525 gr. berechnet.

[1]) S. 16.

Es musste weiter untersucht werden, ob die Fällung des Guanins durch Metaphosphorsäure nicht beeinflusst wird durch die Gegenwart von Adenin und Hypoxanthin, ob sich das Guanin also auf diesem Wege von diesen beiden Basen trennen lässt. Die Angabe von Kossel[1]), dass Adenin und Hypoxanthin durch Metaphosphorsäure nicht gefällt werden, machte dies wahrscheinlich. Gleichwohl gaben mit Guanin und Adenin angestellte Versuche zunächst ungenaue Resultate, indem das ausgefällte Metaphosphat zu hohe Werthe aufwies. Das Adenin wurde daher zunächst allein auf sein Verhalten zu Metaphosphorsäure geprüft. Hierbei zeigte sich nun, dass das Adenin aus neutralen und aus schwach sauren Lösungen durch Metaphosphorsäure ebenfalls, wenn auch weniger vollständig als das Guanin, gefällt wird, dass aber das ausgefällte Adeninmetaphosphat sich in einem grösseren Ueberschuss der Säure wieder löst. Näheres über das Adeninmetaphosphat findet sich im Anhang.[2])

Das Hypoxanthin dagegen gibt mit Metaphosphorsäure keine schwerlösliche Verbindung, sodass die Versuche, bei denen das Guanin bei Anwesenheit von Hypoxanthin ausgefällt wurde, normal verliefen. Ein Versuch zeigte sogar, dass man im Filtrat das Hypoxanthin direct nach Bruhns[3]) in Form von Hypoxanthinsilberpikrat bestimmen kann. 0,166 gr. Guanin und 0,148 Hypoxanthin gaben 0,259 Guaninmetaphosphat und 0,503 Hypoxanthinsilberpikrat, woraus sich 0,159 gr. Guanin und 0,145 gr. Hypoxanthin berechnen.

Gleichwohl wird sich die Bestimmung des Hypoxanthins in dieser Weise nicht empfehlen, da grössere Mengen überschüssiger Metaphosphorsäure im Filtrat leicht zu unrichtigen Resultaten führen können; vielmehr wird man, zumal auch das Adenin im Filtrate selbst durch Natriumpikrat sich nicht direct bestimmen lässt, zweckmässig zunächst das Filtrat mit ammoniakalischer Silberlösung ausfällen, die erhaltenen Silberverbindungen mit verdünnter Salzsäure zersetzen und in der

---

[1]) Centralbl. f. med. Wissensch., 1889, S. 418.

[2]) S. 39.

[3]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 14, S. 555.

vom Chlorsilber abfiltrirten salzsauren Lösung das Adenin nach Bruhns vom Hypoxanthin trennen.

Die Trennung des Guanins vom Adenin durch Metaphosphorsäure verursacht, wie aus dem Gesagten hervorgeht, einige Schwierigkeiten, insofern bei ungenügendem Zusatz von Metaphosphorsäuren leicht ein Theil des Adeninmetaphosphats mit niedergeschlagen bleibt. Es erscheint daher zweckmässig, die Fällung der Basen in stark verdünnter Lösung vorzunehmen.

Kann die im Vorstehenden empfohlene Trennungsmethode der Nucleinbasen auf Vollkommenheit auch keinen Anspruch machen, so dürfte sie doch gegenüber der bisherigen Methode der Abscheidung des Guanins durch Ammoniak bedeutende Vortheile bieten. Da bei dieser stets ein grösserer Ueberschuss von Ammoniak angewendet werden musste, um das in Ammoniak ziemlich schwer lösliche Adenin in Lösung zu halten, andererseits aber die Löslichkeit des Guanins in Ammoniak, zumal in der Wärme, eine nicht unerhebliche ist, so konnte nach dieser Trennungsmethode kaum ein annähernd richtiges Resultat erzielt werden. Schon in der Kälte ist die Fällbarkeit des Guanins durch Ammoniak eine so unvollkommene, dass, wie meine Versuche ergaben, in je 100 cbcm. einer 1% Ammoniaklösung 0,009 gr., einer 3% Ammoniaklösung, 0,015 gr., einer 5% 0,019 gr. Guanin gelöst blieben. Die Löslichkeit des Guanins in heisser Ammoniaklösung ist natürlich eine relativ bedeutend grössere.

Anhang.

Hypoxanthin-Pikrat $C_5H_4N_4O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$.

Versetzt man eine Lösung von Hypoxanthin mit Pikrinsäure-Lösung oder eine saure Hypoxanthin-Lösung mit einer Lösung von Natriumpikrat, so scheiden sich je nach Concentration der angewandten Lösungen nach kürzerer oder längerer Zeit gelbe, glänzende Krystalle von pikrinsaurem Hypoxanthin aus. Die Krystalle haben die Form von Prismen. Lufttrocken erscheint das Pikrat als citronengelbes, glänzendes

Krystallpulver und besitzt die Zusammensetzung: $C_5H_4N_4O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$. Bei 100° verliert es leicht sein Krystallwasser, wodurch es zugleich den Glanz einbüsst.

Es löst sich leicht in heissem Wasser, schwer in kaltem. In Alkalien, auch in Ammoniak ist es leicht löslich.

Analyse:

0,212 gr., lufttrocken, verloren bei 100° 0.01 gr.
0,1195 gr. » » » » 0,0058 gr.
0,196 gr., bei 100° getrocknet, gaben 0,258 gr. CO_2 u. 0,0388 gr. H_2O.
0,1123 gr., bei 100° getrocknet, gaben 25,7 cbcm. N bei 17,3 T u. 762,5 B.

Berechnet für $C_5H_4N_4O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH$:		Gefunden:
C	36,16	35,87
H	1,92	2,2
N	26,85	26,6 %

Die Menge des gefundenen Krystallwassers berechnet sich aus den angeführten Zahlen auf 4,71 und 4,85 %, während die Formel $C_5H_4N_4O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$ 4,7 % Krystallwasser verlangt.

Adenin-Metaphosphat $C_5H_5N_5$, HPO_3.

Wässerige Adeninlösungen, sogar kalt gesättigte, geben auf Zusatz einiger Tropfen einer Lösung von Metaphosphorsäure eine Fällung von Adeninmetaphosphat. Da das Adenin in kaltem Wasser sehr schwer löslich ist, so resultirt hieraus, dass auch das Adenin-Metaphosphat gleich der entsprechenden Guaninverbindung eine in kaltem Wasser sehr schwer lösliche Verbindung ist. Das Adenin-Metaphosphat scheidet sich als ein amorpher Niederschlag ab, der, unter dem Mikroskop betrachtet, aus feinen runden Körnchen besteht oder eine äusserst feine membranöse Masse darstellt. Krystallisirt konnte die Verbindung nicht erhalten werden.

Sie löst sich leicht in Alkalien, auch in Ammoniak. In verdünnten Säuren löst sie sich je nach der Concentration der letzteren schon in der Kälte mehr oder weniger, auch in überschüssiger Metaphosphorsäure. Hieraus folgt, dass eine Adeninlösung, welche stark sauer und nicht sehr concentrirt ist, durch Metaphosphorsäure nicht gefällt wird, und ferner,

dass man in wässerigen, stark verdünnten Adeninlösungen keinen Niederschlag durch Metaphosphorsäure erhält, wenn man von vornherein einen Ueberschuss der letzteren zusetzt.

Wenn Kossel[1]) sagt, dass Adenin durch Metaphosphorsäure nicht gefällt werde, so ist dies darauf zurückzuführen, dass bei den von ihm in dieser Hinsicht angestellten Versuchen, welche ausschliesslich zur Prüfung der oben erwähnten[2]) Hypothese L. Liebermann's dienen sollten, die Fällungen unter den gleichen Bedingungen angestellt wurden, wie sie zur Darstellung des Nucleins dienen, nämlich bei saurer Reaction der Flüssigkeit.

Die Analyse des Adenin-Metaphosphats zeigte, dass demselben die Formel $C_5H_5N_5$, HPO_3 zukomme. Eine Anlagerung von Wasser findet sich hier also nicht. Allerdings will ich bemerken, dass ich bei der Darstellung, namentlich beim Trocknen des für die Analyse bestimmten Präparates Sorge getragen habe, dass die Möglichkeit der Hydratisirung der Verbindung, soweit als thunlich, ausgeschlossen war. Jedenfalls dürfte die Hydratisirung des Metaphosphats beim Adenin, einer starken Base, bedeutend schwerer erfolgen als bei dem schwach basischen Guanin, wenn sie überhaupt eintritt.

Analyse der bei 120° getrockneten Verbindung.

0,2134 gr. gaben nach der Methode Carius 0,1105 $Mg_2P_2O_7$.
0,2065 gr. gaben 0,213 gr. CO_2 und 0,06 H_2O.

	Berechnet für $C_5H_5N_5$, HPO_3:	Gefunden:
P	14,42	14,42
C	27,91	28,14
H	2,79	3,23

Adenin-Goldchlorid $C_5H_5N_5(HCl)_2\ AuCl_3 + H_2O$.

Setzt man zu einer salzsauren Adeninlösung eine Lösung von Goldchlorid, so scheiden sich bei genügender Concentration der Lösung alsbald, in verdünnteren Lösungen beim allmäligen Verdunsten derselben wohlausgebildete, glänzende, orangefarbige Krystalle ab.

[1]) Centralbl. f. med. Wissensch., 1889, S. 418.
[2]) S. 20.

Das im Folgenden näher beschriebene Doppelsalz wurde erhalten durch allmäliges Verdunsten einer stark verdünnten, überschüssige Salzsäure enthaltenden Lösung von Adenin und Goldchlorid. Einzelne der ausgeschiedenen Krystalle waren bei 1,2 ctm. lang. Die Analyse ergab für das Golddoppelsalz die Formel $C_5H_5N_5(HCl)_2\ AuCl_3 + H_2O$. Die Zusammensetzung dieses Salzes macht die Existenz eines salzsauren Adenins von der Formel $C_5H_5N_5(HCl)_2$ wahrscheinlich, zumal auch vom Guanin ein Hydrochlorat von der Formel $C_5H_5N_5O(HCl)_2$ bekannt ist.

U. U. kann das Goldsalz des Adenins zum qualitativen Nachweis der Base mit Vortheil benutzt werden, namentlich auch bei gleichzeitiger Gegenwart von Guanin, welches kein analoges Goldsalz bildet.[1])

Analyse des lufttrockenen Salzes:

0,2514 gr. wurden unter Zusatz von einigen Tropfen Salzsäure in Wasser gelöst, durch H_2S das Gold gefällt; das abfiltrirte und getrocknete Goldsulfid lieferte nach dem Glühen 0,0934 gr. Au.

0,2054 gr. lieferte nach dem Glühen 0,0765 gr. Au.

0,2582 gr. » » » » 0,096 gr. Au.

0,2946 gr. gaben 0,1244 gr. CO_2 u. 0,0514 gr. H_2O.

0,263 gr. gaben 0,111 gr. CO_2 u. 0,0443 gr. H_2O.

0,1715 gr. gaben 19 cbcm. N bei 777 B u. 14,4 T.

0,1818 gr. gaben nach dem Glühen mit Soda u. Salpeter, 0,249 AgCl.

Berechnet für $C_5H_5N_5(HCl)_2AuCl_3 + H_2O$:		Gefunden:
Au	37,17	37,15 37,25 37,18
C	11,34	11 52 11,51
H	1,70	1,94 1.87
N	13,23	13,30
Cl	33,54	33,99

[1]) Auf die Wichtigkeit des Adenin-Goldsalzes für den Nachweis des Adenins wurde schon von Kossel aufmerksam gemacht. (Das Mikroskop und die Methoden der mikroskopischen Untersuchungen von W. Behrens, A. Kossel und P. Schiefferdecker, I, S. 278 Dortselbst finden sich auch Abbildungen von Krystallen).

Herr Dr. Scheibe hatte die Güte, die Krystalle einer eingehenden krystallographischen Untersuchung zu unterwerfen. Genannter Herr, dem ich auch an dieser Stelle meinen Dank ausspreche, fasst das Resultat seiner Untersuchung im Folgenden zusammen:

«Die Krystalle sind in ihren Hauptausbildungen durch die folgenden drei Figuren dargestellt. Trotzdem sie glänzen, sind sie zu Messungen nicht gut geeignet, da m und z. Th. auch o quer gestreift sind, die anderen Flächen uneben erscheinen. Die Messungen können deshalb nur als annähernde gelten, wobei Differenzen bis zu $^1/_4{}^0$ vorkommen.

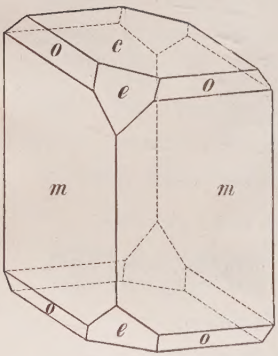


Fig. 1.

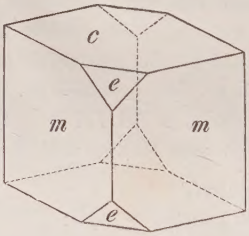


Fig. 2.

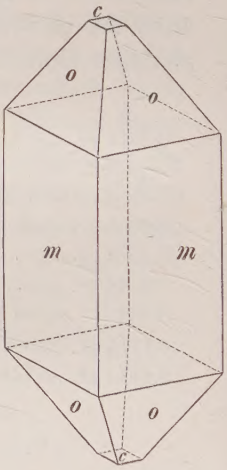


Fig. 3.

Es ist m : m = 90° rund. Die Vorderkante scheint manchmal 3—6′ über 90° zu sein, die Seitenkante so viel darunter. Da nun m : c = 90 ist, so erscheinen die Formen der Fig. 2 würfelig oder parallelopipedisch, zumal wenn e sehr klein ist und o ganz fehlt.

e : e über c misst	=	78° 56′
m : o	=	149° 53′
c : o	=	120° 7′.

Der ∢ m : o ist besonders bei Gestalten der Fig. 3 unter dem Mikroskop auf etwa 150° leicht zu controliren.

Wenn der $\sphericalangle$ m : m auffälligerweise = 90° scheint, so ist doch die Substanz nicht quadratisch, sondern rhombisch, wie Art der Combination und optische Verhältnisse beweisen.

Es ist c = ∞ a : ∞ b = 0P Basis,
m = a : b : ∞ c = ∞P Säule aufrecht,
e = a : ∞ b : c = P$\bar{\infty}$ Quersäule,
o = a : b : c = P Oktaeder.

Die Auslöschung auf den m-Flächen ist parallel den Kanten zu m und c.

Auf c ist die Auslöschung diagonal.

Ebene der optischen Axe ist die Basis c. Nächst oben genanntem Winkel m : o = 150° ist unter dem Mikroskop bei convergentem polarisirtem Lichte auf jeder Fläche der Säule m der Austritt einer optischen Axe zu beobachten. Dieselbe ist nach der Kante m : m zu geneigt, an der oben und unten e auftritt. Dabei zeigt sich lebhafte Dispersion. Der grüne Theil liegt nach eben bezeichneter Kante m : m (Fig. 4), der rothe Saum nach der anderen. Die Dispersion ist also $v > \rho$ um Axe ă, die wohl erste Mittellinie ist.»

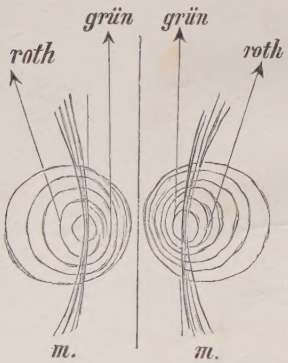


Fig. 4.

Die dieser Dissertation zu Grunde liegenden Experimentaluntersuchungen habe ich in der chemischen Abtheilung des physiologischen Institutes der Universität Berlin ausgeführt.

Herrn Professor Kossel, meinem hochverehrten Lehrer, spreche ich für die Anregung zu dieser Arbeit und die freundliche Unterstützung bei meinen Versuchen meinen wärmsten Dank aus.

Thesen.

1. Die übliche Unterscheidung der bekannt gewordenen Cellulose-Formen bedarf einer genaueren Begründung.
2. Die Wirkung von aktivem Sauerstoff ist nur durch die Annahme freier Sauerstoffatome erklärbar.
3. Die Bildung der Milchsäure im lebenden Muskel ist zweifelhaft.

Vita.

Natus sum Carolus Wulff Nonis Novembribus a. h. s. LXII in oppido Guestphaliae, quod vocatur Hoerde, patre Friderico matre Maria de gente Wormstall, quos praematura morte absumptos doleo atque maereo.

Fidei addictus sum evangelicae. Primis litterarum elementis imbutus gymnasium frequentavi urbis Tremoniae, deinde Gladbachii Monachorum, quarum scholarum beneficiis et disciplina usque ad annum LXXXII fructus sum. Maturitatis testimonium adeptus arti pharmaceuticae operam navavi. Postquam hanc artem per quinque annos exercui et unum annum militavi, anno LXXXVIII numero civium Universitatis Fridericae Guilelmae Berolinensis adscriptus studiis pharmaceuticis me dedi. Examine pharmaceutico anno XC superato per duos annos studiis me tradidi philosophicis, physicis, praecipue chemicis. Scholis et exercitationibus interfui virorum illustrissimorum: du Bois-Reymond, Dilthey, Engler, Gabriel, Garcke, v. Hofmann, König, Kossel, Kundt, Munk, Pinner, Schotten, Tiemann, Tschirch, Westermaier.

Quibus omnibus viris clarissimis optime de me meritis gratias habeo quam maximas semperque habebo.

Druck d. Str. N. N., vorm. H. L. Kayser.